

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЯ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОЛИМИКРОБНОМ СЕПСИСЕ

Цвирко И.А., Шебеко В.И., Солодков А.П.

Государственный медицинский университет, г. Витебск

The experiments were performed on 124 hearts isolated from female Wistar rats. Isolated hearts were perfused by Langendorff method with Krebs-Henseleit solution at constant volume flow rate.

The aims of the present study were to determine possible changes in coronary vascular tone regulation in "cecal ligation and puncture" (CLP) model of polymicrobial sepsis.

The present studies indicate that in CLP: (1) enlarge rate of coronary vessels tone diminishes in condition perfusion isolated rat heart by high KCl solution (34 mM); (2) increase of coronary perfused pressure reduced during graduated increase of volume flow rate; (3) there are no full restore of contractile response of vessels smooth muscle cells during inhibition of nitric oxide syntase.

Thus, the impairment of coronary vessels tone after CLP results from increased NO productions as well as disturbance of vessels smooth muscle cells contractile activity.

Патофизиологические механизмы нарушения функции различных органов и тканей, в том числе и сердца, при сепсисе пока ещё плохо изучены. Предложенная L. Thomas'ом концепция [3], в соответствии с которой септический шок рассматривали в течение последних 30 лет как следствие чрезмерного ответа иммунной системы на микроорганизмы и их токсины, поступающие в кровоток, не нашла своего подтверждения ни при экспериментальном изучении сепсиса, ни в клинической практике. Фармакологические подходы к лечению сепсиса, основанные на использовании веществ с противовоспалительной активностью (например, растворимые формы рецепторов для интерлейкина-1 и фактора некроза опухоли) оказались неэффективными. Всё это потребовало пересмотра представлений о патогенезе сепсиса. Стало также понятным, что экспериментальное моделирование септического шока посредством внутривенного или внутрибрюшинного введения бактериального липополисахарида не позволяет получить результаты, адекватно отражающие характер и динамику нарушений функции органов и тканей у пациентов с септическим шоком. Поэтому в настоящее время всё чаще используется более адекватная экспериментальная модель полимикробного сепсиса - "cecal ligation and puncture" (CLP) модель [1]. Особенности нарушения тонуса коронарных сосудов при этом способе моделирования септического шока практически не изучены. Не исследована также роль NO в механизмах нарушения регуляции тонуса коронарных сосудов при CLP-сепсисе.

Цель исследования - изучить характер нарушения тонуса коронарных сосудов при CLP-сепсисе у крыс.

Материалы и методы исследования

Выполнены две серии экспериментов на 128 крысах-самках линии Вистар (200-250 граммов) под нембуталовым наркозом. В первой серии экспериментов крысы были разделены на три группы: контрольная (сердце извлекали через 6 часов после однократного внутривентрального введения 0,154 М раствора хлорида натрия); эндотоксический шок (ЭШ) - сердце извлекали через шесть часов после однократного внутривентрального введения липополисахарида *E. coli* (ЛПС) в дозе 5 мг/кг; CLP-сепсис (сердце извлекали через 24 часа после выполнения оперативного вмешательства). Для моделирования CLP-сепсиса производили разрез передней брюшной стенки, через который извлекали слепую кишку. Затем ниже илео-цекального клапана на нее накладывали лигатуру и дважды пунктировали иглой [2, 4].

В первой серии экспериментов изолированное по методу Лангендорфа сердце крысы перфузировали в условиях постоянной объемной скорости потока (4 мл/мин) стандартным раствором Кребса-Хензелята, аэрированным карбогеном (pH 7,3 - 7,4). После стабилизации коронарного перфузионного давления перфузию сердца переключали на гиперкалиевый раствор (34 мМ KCl), что приводило к значительному приросту коронарного перфузионного давления. Затем, на фоне стабилизированного перфузионного давления интрааортально вводили N-ацетилцистеин (10 мМ) в объеме 0,1 мл в течение 1 минуты.

Во второй серии экспериментов крысы также были разделены на три группы: контрольная, CLP-сепсис, ложная операция (слепую кишку не пунктировали). Перфузию изолированного сердца стандартным раствором Кребса-Хензелята осуществляли в условиях ступенчатого увеличения объемной скорости потока (4 - 7 - 11 - 18 мл/мин). Коронарное перфузионное давление (КПД) измеряли при помощи датчика ЕМТ-34 электроманометра ЕМТ-311 («Мингограф-81»), соединенного с системой перфузии сердца вблизи аорты.

Непосредственно перед извлечением сердца измеряли среднее артериальное давление (САД) в левой сонной артерии и регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС). Для ингибирования NO-синтазы в перфузионный раствор добавляли метиловый эфир N- ω -нитро-L-аргинина (L-NAME, 60 мкМ). Содержание нитратов/нитритов определяли в плазме крови реактивом Грисса спектрофотометрически. Содержание МДА и ДК в ткани сердца определяли с помощью традиционных методов. Полученный цифровой материал обрабатывали по общепринятым методам вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Как при CLP-сепсисе, так и при введении бактериального липополисахарида отмечалось значительное снижение САД и увеличение

ЧСС. Через 6 часов после введения эндотоксина погибало 22% крыс, а при моделировании CLP-сепсиса в течение 24 часов погибало 33% крыс.

Исходное коронарное перфузионное давление при CLP-сепсисе было существенно меньше, чем в контроле. Перфузия изолированного сердца гиперкалиевым раствором приводила к приросту КПД вследствие деполяризации мембран гладкомышечных клеток коронарных сосудов. В условиях интактной NO-синтазы величины КПД при CLP-сепсисе и введении ЛПС были достоверно выше, чем в контроле (табл.1). Вероятно это связано с уменьшением биологической доступности NO вследствие окислительного стресса. Действительно, при CLP-шоке содержание ДК увеличивалось в ткани сердца на 130%, а содержание МДА - на 95%, по сравнению с контролем. Содержание нитратов/нитритов в плазме крови крыс в условиях CLP-сепсиса равнялось $36,2 \pm 1,4$ μ M против $26,8 \pm 0,5$ μ M в контроле. В условиях ингибирования NO-синтазы абсолютные величины КПД после введения ЛПС при перфузии сердца гиперкалиевым раствором были практически одинаковыми с контрольными. При этом максимальное значение КПД при CLP-сепсисе было достоверно меньше, чем в контроле (табл.1). Вероятно, в условиях CLP-сепсиса нарушаются механизмы поступления кальция в гладкомышечные клетки коронарных сосудов через потенциалзависимые кальциевые каналы или нарушается сократительная активность этих клеток.

Таблица 1

Изменение коронарного перфузионного давления (КПД) при перфузии изолированного сердца крыс гиперкалиевым раствором (34 мМ KCl)

№ групп-пы	Экспериментальные условия	Исходное КПД (мм рт. ст.)	КПД (мм рт. ст.) после KCl (34 мМ)
1	Контроль (интактная NO-синтаза) n=13	$21,5 \pm 1,2$	$82,6 \pm 6,3$
2	Контроль (ингибирование NO-синтазы) n=10	$24,1 \pm 3,1$	$155,5 \pm 8,2$
3	ЭШ (ЛПС) (интактная NO-синтаза) n=11	$20,1 \pm 2,9$	$114,1 \pm 7,5^*$
4	ЭШ (ЛПС) (ингибирование NO-синтазы) n=14	$23,4 \pm 1,3$	$155,6 \pm 4,4$
5	CLP-сепсис (интактная NO-синтаза) n=12	$13,3 \pm 1,0^{**}$	$106,3 \pm 4,7^{**}$
6	CLP-сепсис (ингибирование NO-синтазы) n=10	$15,9 \pm 1,2^{***}$	$127,4 \pm 5,3^{***}$

Примечание. * $P < 0,05$, сравнение величин в группах №1 и №3; ** $P < 0,05$, сравнение величин в группах №1 и №5; *** $P < 0,05$, сравнение величин в группах №2 и №6.

Перфузия сердца в условиях ступенчатого увеличения объёмной скорости потока характеризовалась меньшим приростом КПД при CLP-шоке, по сравнению с контролем (табл. 2). Ингибитор NO-синтазы только частично восстанавливает сократительный ответ гладкомышечных клеток коронарных сосудов.

Таблица 2

Изменение КПД при ступенчатом увеличении объёмной скорости коронарного потока

№ группы	Экспериментальные условия	4 мл/мин	7 мл/мин	11 мл/мин	18 мл/мин
1	Контроль (интактная NO-синтаза) n=8	20,9±1,5	25,3±2,2	44,6±3,1	80,8±12,3
2	Контроль (ингибирование NO-синтазы) n=9	19,5±1,1	33,2±1,6	144,2±13,9	221,6±7,8
3	Операция (интактная NO-синтаза) n=8	17,8±1,1	23,4±1,6	43,5±3,9	76,5±4,6
4	Операция (ингибирование NO-синтазы) n=8	19,5±1,1	34,6±2,0	149,3±11,2	199,2±2,0
5	CLP-сепсис (интактная NO-синтаза) n=11	11,1±0,7*	16,4±1,0*	34,8±4,4*	58,6±3,8*
6	CLP-сепсис (ингибирование NO-синтазы) n=10	14,8±1,2* *	25,4±1,4* *	123,0±4,1* *	189,1±7,8**

Примечание. * P<0,05, сравнение величин в группах №1 и №5; ** P<0,05, сравнение величин в группах №2 и №6;

Это может свидетельствовать как о нарушении механизмов деполяризации гладкомышечных клеток вследствие изменения функции калиевых каналов, так и о нарушении сократительной активности гладкомышечных клеток.

Одним из важных признаков нарушения тонуса коронарных сосудов при эндотоксическом шоке и CLP-сепсисе может быть окислительный стресс и изменения редокс-состояния эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток. Интрааортальное введение тиолсодержащего антиоксиданта N-ацетилцистеина вызывало значительное снижение тонуса коронарных сосудов после введения ЛПС (рис.1). Причём это действие N-АЦ было максимально выраженным только в условиях интактной NO-синтазы. При CLP-сепсисе действие N-ацетилцистеина было менее выраженным, хотя и здесь оно значительно подавлялось ингибитором NO-синтазы. Существенное снижение тонуса коронарных сосудов под действием N-ацетилцистеина при эндотоксическом шоке могло быть обусловлено увеличением биологического действия NO.

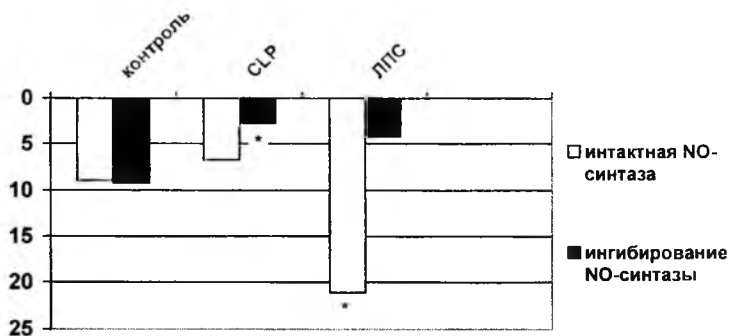


Рис.1 Выраженность снижения КПД в ответ на введение N-ацетилцистеина (в % от прироста)

Таким образом, при CLP-сепсисе наблюдается комплексное нарушение тонуса коронарных сосудов, связанное как с избыточной продукцией NO, так и с нарушением сократительной активности гладкомышечных клеток.

Литература

1. Deitch E.A. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. // Shock. -1998. - V. 9. - P. 1-11
2. Goya T., Abe M., Shimura H., Torisu M. Characteristics of alveolar macrophages in experimental septic lung. //J. Leukocyte Biol. -1992. -V.52. -P. 236-243
3. Thomas L. Germs. // N.Engl. J. Med. - 1972-V. 287. - P. 553-555.
4. Wichterman K. A., Baue A. E. , Chaudry I. H. Sepsis and septic shock: a review of laboratory models and a proposal. //J. Surg. Res. -1980. -V.29. - P.189-201.